

# Iradiasi Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$ sebagai Induksi Mutagenesis terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Lipid Mikroalga *Botryococcus* sp.

Niki Yuliansari, Endry Nugroho Prasetyo, dan Dini Ermavitalini

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: dinierma@bio.its.ac.id

**Abstrak**—*Botryococcus* sp. adalah salah satu mikroalga yang berpotensi menjadi sumber bahan baku produksi biodiesel karena memiliki kandungan lipid yang tinggi. Namun produksi lipid dari mikroalga ini sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tumbuhnya (pH, cahaya, temperatur, nutrisi, dll). Induksi mutagenesis dengan iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dapat digunakan untuk menginisiasi perubahan genetik pada *Botryococcus* sp. sehingga menghasilkan tipe mikroalga mutan dengan kemampuan memproduksi lipid yang lebih tinggi dibandingkan *wild type*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dengan dosis 0, 2, 4, 6 dan 10 Gy terhadap pertumbuhan, kandungan lipid, dan komposisi asam lemak mikroalga *Botryococcus* sp.. Rancangan penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktorial pada taraf kepercayaan 95% untuk analisis kuantitatif yaitu analisis biomassa dan total lipid, serta analisis komposisi asam lemak dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa iradiasi Sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  pada *Botryococcus* sp. berpengaruh terhadap biomassa dan kandungan lipidnya. Namun antara perlakuan kontrol (0 Gy) dengan mikroalga hasil iradiasi dosis 2 Gy, 4 Gy dan 6 Gy tidak berbeda nyata. Sedangkan antara kontrol dengan mikroalga hasil iradiasi dosis 10 Gy berbeda nyata. Biomassa dan persentase kandungan total lipid tertinggi terdapat pada mikroalga hasil iradiasi dosis 10 Gy sebesar 0,333 gram biomassa dan 41% total lipid. Komposisi asam lemak *Botryococcus* sp. kontrol terdiri dari 6 jenis asam lemak sedangkan *Botryococcus* sp. hasil iradiasi 10 Gy memiliki 12 jenis asam lemak, dimana asam lemak rantai panjang meningkat dan asam lemak rantai pendek menurun.

**Kata Kunci**—*Botryococcus* sp., Lipid, Mutagenesis, Pertumbuhan, Sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$ .

## I. PENDAHULUAN

**M**IKROALGA merupakan organisme uniseluler fotosintetik yang memiliki potensi besar dalam industri bioteknologi terutama sebagai sumber energi terbarukan [1,2]. Mikroalga dapat memberikan beberapa jenis sumber energi terbarukan, seperti metana yang dihasilkan oleh proses metabolisme secara anaerobik dari biomassa alga, biodiesel yang berasal dari lipid/minyak mikroalga, dan produksi biohidrogen [1,3,4,5].

Mikroalga sebagai sumber biodiesel memiliki potensi untuk benar-benar menggantikan fosil diesel, karena dibandingkan dengan tanaman penghasil minyak lainnya, mikroalga tumbuh sangat cepat dan mengandung lipid yang tinggi [3]. Mikroalga dapat menggandakan biomasanya dalam waktu 24 jam, duplikasi biomassa mikroalga selama fase eksponensial pertumbuhannya dapat terjadi dalam waktu 3,5 jam, dan kandungan lipid pada mikroalga dapat melebihi 80% berat biomassa keringnya pada kondisi lingkungan tertentu [3,6].

*Botryococcus* sp. adalah salah satu jenis mikroalga yang termasuk dalam kelas *Chlorophyceae* dengan kandungan total lipid tertinggi dibanding mikroalga jenis lain, yakni sebesar 75% dari berat keringnya [1,7]. *Botryococcus* memiliki profil asam lemak yang utama yaitu asam oleat (C18:1, 54,9%), asam palmitat (C16:0, 12,2%), asam linolenat (C18:3, 5,5%), asam stearat (C18:0, 3,9%) dan asam linoleat (C18:2, 5,5%), merupakan asam lemak yang dapat digunakan untuk bahan baku biodiesel [8]. Namun produksi biodiesel dari mikroalga masih kurang diaplikasikan dalam dunia industri karena membutuhkan biaya yang lebih tinggi dibandingkan dengan minyak fosil [9].

Penggunaan strain mikroalga dengan kandungan lipid optimum merupakan salah satu solusi untuk meminimalisir biaya produksi mikroalga [10,11]. Teknologi mutagenesis merupakan metode yang cepat dan efisien untuk mendapatkan strain mikroalga dengan kandungan lipid yang tinggi [12]. Mutagenesis dengan radiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  memiliki waktu dan intensitas yang terkontrol, serta energi yang lebih besar dari pada radiasi lain seperti Ultraviolet sehingga dapat mempengaruhi atom dan molekul dalam sel untuk menginduksi perubahan materi genetik sel [13,14]. Mikroalga hasil mutasi memiliki kapasitas biosintesis lipid yang lebih tinggi sebab beberapa gen yang berkorelasi dengan biosintesis lipid termutasi sehingga menghasilkan ekspresi positif, salah satunya ekspresi gen dari acetyl-CoA carboxylase (ACCase) meningkat lima kali setelah mutagenesis [15]. Penelitian serupa menunjukkan mutan *Scenedesmus dimorphus* hasil radiasi sinar Gamma mampu meningkatkan akumulasi lipid sebesar 71,3%, karena beberapa protein yang berkorelasi dengan biosintesis lipid dan metabolisme energinya mengalami *overexpressed* [16]. Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini dilakukan iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  pada *Botryococcus* sp.



untuk menginduksi perubahan pada jalur metabolismenya sehingga dapat mengakumulasi lipid lebih tinggi sebagai acuan pengembangan produksi biodiesel.

## II. METODE PENELITIAN

### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2015 hingga Januari 2016 di Laboratorium Biosains dan Teknologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

### B. Prosedur Kerja

Penelitian dilakukan sesuai dengan metode sebagai berikut :

#### 1. Sterilisasi Alat dan Media Kultur

Semua peralatan gelas, dan selang plastik aerator dicuci dengan menggunakan sabun, dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan. Air laut dikondisikan dengan salinitas optimum sebesar 25 ppt dan pada pH optimum sebesar 7,2 [17]. Selanjutnya alat dan media kultur tersebut di autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 30 menit [18].

#### 2. Persiapan Pupuk dan Media Kultur

Pupuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pupuk Walne yang diperoleh dari Laboratorium Pakan Alami, Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo dengan komposisi sesuai yang ditampilkan pada Tabel 1. Bahan-bahan pupuk Walne tersebut dilarutkan dalam 1 L aquades.

Tabel 1.  
Komposisi Pupuk Walne [19].

| Bahan                            | Ukuran    |
|----------------------------------|-----------|
| 1. Komponen Nutrien              |           |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | 20 gr     |
| Na <sub>2</sub> EDTA             | 45 gr     |
| FeCl <sub>3</sub>                | 1,30 gr   |
| NaNO <sub>3</sub>                | 100 gr    |
| MnCl <sub>2</sub>                | 0,36 gr   |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>   | 33,60 gr  |
| 2. Stok Larutan Vitamin          |           |
| Vitamin B12 (Cyanocobalamin)     | 5,00 gr   |
| Vitamin B1 (Thiamine.HCl)        | 100,00 gr |

#### 3. Penentuan Umur Starter

Mikroalga *Botryococcus* sp. yang diperoleh dari BBAP Situbondo dengan kepadatan sel 17.000.000 sel/ml diambil sebanyak 60 ml dan dimasukkan ke dalam botol kultur yang berisi 240 ml air laut dan 0,3 ml pupuk Walne. Kepadatan sel *Botryococcus* sp. diukur setiap 24 jam hingga mencapai fase kematian menggunakan spektrofotometer Genesys 10S UV-Vis pada panjang gelombang 680 nm [20].

#### 4. Pembuatan Starter

Mikroalga *Botryococcus* sp. diambil sebanyak 60 ml dan dimasukkan ke dalam botol kultur yang berisi 240 ml air laut

dan 0,3 ml pupuk Walne. Setelah sampai pada fase setengah eksponensial dengan nilai *Optical Density* (OD)  $\pm$  0,45, maka mikroalga diambil dan disiapkan untuk diradiasi [15].

#### 5. Iradiasi Mikroalga

Mikroalga *Botryococcus* sp. diambil sebanyak 60 ml (OD :  $\pm$ 0,45 pada panjang gelombang 680 nm) atau fase setengah eksponensial, lalu dimasukkan ke dalam botol kultur [15]. Mikroalga diradiasi dengan sinar Gamma <sup>60</sup>Co pada dosis 2, 4, 6, dan 10 Gy menggunakan iradiator Gamma Chamber 4000 A di Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta.

#### 6. Penentuan Waktu Pemanenan

Penentuan waktu pemanenan dilakukan dengan pembuatan kurva pertumbuhan *Botryococcus* sp. pada masing-masing mikroalga hasil iradiasi sinar Gamma <sup>60</sup>Co untuk mengetahui fase pertumbuhan eksponensial akhir sebagai dasar dalam menentukan waktu pemanenan *Botryococcus* sp. [21]. Metode yang dilakukan sama dengan metode penentuan umur starter pada sub bab 3.

#### 7. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif kuantitatif. Penelitian secara deskriptif berdasarkan hasil analisis dengan *Gas Chromatography* (GC), dan secara kuantitatif berdasarkan analisis dengan uji Anova (*Analysis of Variance*). Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Kusriningrum, 2008). Penelitian terdiri dari 5 perlakuan, dengan 3 kali pengulangan. Mikroalga *Botryococcus* sp. diradiasi dengan dosis 0, 2, 4, 6, dan 10 Gy, kemudian dianalisis biomassa, dan kandungan lipidnya.

#### 8. Pemanenan dan Analisis Biomassa

Pengukuran produksi biomassa dilakukan dengan memanen 100 ml mikroalga dengan cara disaring dengan kertas saring Whatman No. 40 yang telah diketahui beratnya dan dibilas dengan aquades. Kertas saring dan hasil panen kemudian dikeringkan dalam oven selama 24 jam pada suhu 60°C, kemudian ditimbang. Bobot kering dari mikroalga yang dipanen tersebut didapat dari selisih bobot kering kertas saring dan mikroalga dengan bobot kering kertas saring.

#### 9. Pengukuran Kandungan Lipid

Pengukuran kadar lipid total menggunakan metode Bligh & Dyer [22] yang telah dimodifikasi. Diambil sebanyak 10 mL sel kultur dan disentrifugasi 6000 rpm selama 15 menit. Untuk ekstraksi minyak ditambahkan metanol sebanyak 3 mL, selanjutnya disonikasi 4 x 1 menit. Setelah itu ditambahkan 6 mL kloroform dan dilakukan *Shaker* selama 1 jam. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 10 mL dan di *shaker* kembali selama 15 menit. Hasil *shaker* tersebut didiamkan sebentar agar terpisah fase air dan minyaknya. Minyak berada di bagian bawah. Minyak mikroalga yang masih bercampur dengan kloroform diambil menggunakan pipet pasteur ke dalam tabung



reaksi yang telah ditimbang beratnya. Tabung reaksi tersebut disimpan di tempat terbuka agar kloroform menguap dan hanya minyak yang tertinggal. Perhitungan % berat total lipid menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ lipid} = \frac{(A \times B)}{C}$$

Keterangan : A : Berat minyak (gram)  
B : Kadar larutan (ml)  
C : Berat biomassa (gram) [23]

### C. Analisis Data

Data hasil pengamatan biomassa, dan kandungan Lipid (%) dianalisis dengan analisis statistik dengan uji Anova (*Analysis of Variance*) satu faktor pada taraf kepercayaan 95%. Hipotesis yang digunakan adalah sebagai berikut:

- $H_0$  : variasi dosis iradiasi tidak berpengaruh terhadap parameter pengamatan  
 $H_1$  : variasi dosis iradiasi berpengaruh terhadap parameter pengamatan

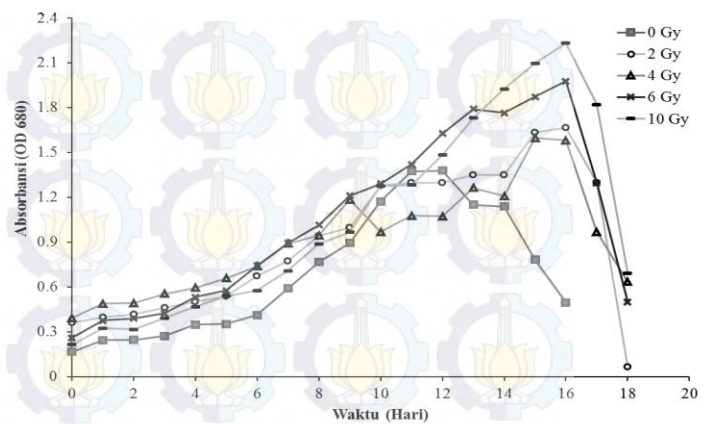
Jika  $H_0$  ditolak atau dosis iradiasi yang berbeda memberi pengaruh terhadap parameter, maka dilanjutkan dengan uji Tukey (*Beda Nyata Jujur/Honestly Significant Difference Test*) pada taraf 5%, dengan menggunakan program Minitab 16.

Analisis komposisi asam lemak dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) sesuai metode Song *et al.* [24]. Analisis GC-MS dilakukan di Laboratorium Unit Layanan Pengujian (ULP) Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Sampel lipid dilarutkan dalam n-hexane dan dimasukkan ke dalam tabung derivatisasi. Larutan sampel kemudian diuapkan hingga kering dan ditambahkan 2 ml NaOH-Metanolat, ditutup rapat, divorteks lalu dipanaskan pada suhu 90°C selama 5 menit lalu didinginkan hingga suhu ruangan. Kemudian sampel diderivatisasi dengan menambahkan 2 ml BF<sub>3</sub>, ditutup rapat, divorteks lalu dipanaskan pada suhu 90°C selama 30 menit kemudian didinginkan hingga suhu ruangan. Selanjutnya ditambahkan 4 ml n-hexane dengan pipet volum, divorteks selama 2 menit lalu didiamkan hingga terpisah menjadi 2 fasa. Fasa n-hexane (lapisan atas) diambil hingga volum 500 µL dan dimasukkan ke dalam vial GC untuk analisa GC-MS.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Iradiasi Sinar Gamma <sup>60</sup>Co terhadap Pertumbuhan *Botryococcus* sp.

Profil pertumbuhan mikroalga *Botryococcus* sp. tanpa dan dengan perlakuan hasil iradiasi sinar Gamma <sup>60</sup>Co dapat diamati pada Gambar 1.



Gambar 1. Profil Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus* sp.  
Keterangan : Gy : Gray (Dosis Radiasi)

Hasil iradiasi sinar Gamma <sup>60</sup>Co memberikan pengaruh pada profil pertumbuhan mikroalga yang ditandai dengan fase eksponensial pertumbuhan yang lebih panjang 4-5 hari dibandingkan dengan mikroalga tanpa iradiasi (0 Gy/kontrol). Pada Gambar 4.1 tampak bahwa pada *Botryococcus* sp. dengan perlakuan 0 Gy (kontrol) memiliki fase lag hingga hari ke-1 pertumbuhan, kemudian fase log/eksponensialnya terjadi selama 11 hari dimulai pada hari ke-1 hingga hari ke-11 pertumbuhan. Lalu fase stasioner terjadi hingga hari ke-12, sedangkan hari berikutnya terjadi penurunan pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sari [25] yang menunjukkan pertumbuhan *Botryococcus* sp. dengan fase pertumbuhan log hingga hari ke 1, kemudian dilanjutkan dengan fase eksponensial yang pada penelitian ini terjadi hingga hari ke 10, kemudian terjadi fase stasioner selama 1 hari dilanjutkan dengan fase penurunan pertumbuhan.

Profil pertumbuhan mikroalga hasil iradiasi sinar Gamma memiliki fase lag terjadi hingga hari ke-1 pertumbuhan. Kemudian terjadi fase eksponensial, dimana pada mikroalga hasil iradiasi dengan dosis 2 Gy dan 4 Gy ini terjadi hingga hari ke-15, sedangkan pada mikroalga hasil iradiasi dengan dosis 6 Gy dan 10 Gy terjadi hingga hari ke-16. Setelah itu pertumbuhan mikroalga mulai mengalami penurunan pertumbuhan. Perbedaan durasi pertumbuhan ini merupakan hasil respon spesifik mikroalga terhadap perubahan kondisi lingkungannya [26]. Penelitian tentang pengaruh radiasi sinar Gamma pada *Nitzschia* sp. juga menunjukkan bahwa mikroalga hasil iradiasi memiliki pertumbuhan yang meningkat seiring bertambahnya dosis radiasi [15]. Fase eksponensial yang mengalami perpanjangan durasi ini diduga akibat mikroalga yang diiradiasi mensintesis energi simpanan di dalam selnya untuk pertahanan hidupnya. Hal ini dilakukan karena radiasi menyebabkan stres oksidatif sel yang memicu sel untuk melakukan proses pertahanan untuk menjaga pertumbuhannya dan mengurangi efek stres tersebut [27].



### B. Iradiasi Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$ terhadap Biomassa dan Kandungan Lipid *Botryococcus* sp.

Pemanenan biomassa dan perhitungan total lipid mikroalga *Botryococcus* sp. dilakukan pada fase akhir eksponensial sesuai dengan profil pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan Yubin *et al* [28] yang menyatakan bahwa akumulasi biomassa terbesar mikroalga adalah pada fase eksponensial yang memiliki laju pertumbuhan yang tertinggi. Hasil rata-rata biomassa dan total lipid mikroalga *Botryococcus* sp. dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3.

Pengaruh Iradiasi terhadap Biomassa dan Total lipid *Botryococcus* sp..

| Dosis Radiasi | Biomassa (gram)          | Total Lipid (%)          |
|---------------|--------------------------|--------------------------|
| 0 Gy          | 0,130±0,02 <sup>a</sup>  | 27,173±1,6 <sup>a</sup>  |
| 2 Gy          | 0,183±0,05 <sup>ab</sup> | 23,772±6,7 <sup>a</sup>  |
| 4 Gy          | 0,133±0,03 <sup>a</sup>  | 29,764±5,0 <sup>ab</sup> |
| 6 Gy          | 0,177±0,03 <sup>a</sup>  | 31,544±3,1 <sup>ab</sup> |
| 10 Gy         | 0,333±0,11 <sup>b</sup>  | 41,044±4,0 <sup>b</sup>  |

Keterangan : \*Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil berbeda tidak nyata berdasarkan uji ANOVA dan uji lanjut Tukey pada taraf signifikansi 95%. Standar deviasi, n=3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa iradiasi berpengaruh pada biomassa dan total lipid mikroalga. Biomassa tertinggi mikroalga *Botryococcus* sp. tercapai pada kelompok perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy. Hasil uji dengan Anova menunjukkan bahwa dosis iradiasi berpengaruh terhadap biomassa mikroalga *Botryococcus* sp. dengan  $P=0,009$  ( $P<0,05$ ). Sehingga dilakukan uji lanjutan dengan uji Tukey. Hasil uji Tukey terhadap biomassa *Botryococcus* sp. menunjukkan antara perlakuan dosis 0 Gy (kontrol) dengan dosis radiasi 2 Gy, 4 Gy dan 6 Gy tidak berbeda nyata. Biomassa *Botryococcus* sp. hasil iradiasi sinar Gamma pada dosis 2 Gy dan 10 Gy juga tidak berbeda nyata. Sedangkan antara perlakuan kontrol dengan mikroalga hasil radiasi dosis 10 Gy menunjukkan beda nyata.

Hasil perlakuan dengan dosis radiasi 10 Gy yang memiliki biomassa tertinggi yang diduga bahwa pada *Botryococcus* sp. terjadi peningkatan aktivitas enzim pada proses fotosintesis yang menyebabkan pertumbuhan sel juga meningkat. Iradiasi sinar Gamma pada dosis rendah dapat meningkatkan aktivitas enzim, proliferasi sel, dan pertumbuhan sel [29]. Penelitian hasil iradiasi sinar Gamma pada *Spirogyra* menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim RuBisCo sehingga laju fotosintesis dan pertumbuhannya meningkat dibandingkan *wild-type* atau *Spirogyra* yang tidak diiradiasi [30].

Iradiasi sinar Gamma juga berpengaruh pada total lipid *Botryococcus* sp. seperti pada Tabel 3. Hasil uji dengan Anova menunjukkan bahwa dosis iradiasi berpengaruh terhadap kandungan total lipid dengan  $P=0,008$  ( $P<0,05$ ). Sehingga dilakukan uji lanjutan dengan uji Tukey. Hasil uji Tukey terhadap kandungan lipid total *Botryococcus* sp. menunjukkan bahwa antara perlakuan dosis kontrol dengan dosis 2 Gy, 4 Gy, dan 6 Gy tidak berbeda nyata. Hasil yang sama juga terjadi pada total lipid hasil iradiasi pada dosis 4 Gy, 6 Gy dan 10 Gy tidak berbeda nyata. Namun antara perlakuan kontrol dengan

dosis 10 Gy menunjukkan beda nyata. Hal ini diduga terjadi akibat peningkatan aktivitas enzim yang berkorelasi dengan biosintesis lipid dari hasil iradiasi dosis 10 Gy pada *Botryococcus* sp.. Iradiasi sinar Gamma pada dosis tertentu dapat menyebabkan perubahan pada struktur dan metabolisme sel [31].

Induksi mutagenesis dengan sinar Gamma merupakan mutasi acak, sehingga menyebabkan respon yang dihasilkan dari sel dapat berbeda-beda [32]. Hasil analisis biomassa dan total lipid pada penelitian ini menunjukkan adanya respon yang berbeda pada *Botryococcus* sp. hasil iradiasi dosis 2 Gy yang memiliki biomassa tinggi namun total lipidnya lebih rendah dari kontrol. Sedangkan pada *Botryococcus* sp. hasil iradiasi dosis 4 Gy, 6 Gy dan 10 Gy yang biomassa dan kandungan lipidnya meningkat seiring dengan meningkatkan dosis iradiasi. Hal ini diduga terjadi karena pada *Botryococcus* sp. hasil iradiasi dosis 2 Gy terjadi peningkatan aktivitas enzim yang berkorelasi metabolisme karbohidrat, sedangkan pada *Botryococcus* sp. hasil iradiasi dosis 10 Gy, peningkatan aktivitas enzim terjadi lebih kearah metabolisme lipidnya. Lipid dan karbohidrat merupakan produk cadangan energi yang diproduksi oleh sel pada saat tercekam stres sebagai pertahanan hidupnya dan juga untuk memproduksi netral lipid [33]. Perbedaan respon hasil iradiasi ini terjadi karena mutagenesis dengan sinar Gamma menginduksi perubahan genetik yang berdasarkan pada dosis iradiasi [34]. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Tammam *et al.* [35] pada mikroalga *Dunaliella salina* yang menunjukkan adanya empat mutan dengan variasi nukleotida berbeda hasil iradiasi sinar Gamma dengan dosis yang berbeda.

### C. Iradiasi Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$ terhadap Komposisi Asam Lemak *Botryococcus* sp.

Analisis komposisi asam lemak pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry* (GC-MS). Analisis ini dilakukan pada *Botryococcus* sp. perlakuan kontrol dan hasil radiasi 10 Gy karena memiliki perbedaan yang signifikan pada biomassa dan persentase kandungan total lipidnya. Hasil analisis kromatograph pada mikroalga *Botryococcus* sp. kontrol (0 Gy) dapat dilihat pada Lampiran 5. Penentuan komposisi asam lemak dilakukan berdasarkan kesesuaian fraksinasi lipid mikroalga dengan standar pada GC-MS. Total persentase asam lemak didapatkan berdasarkan luas area dibawah kurva pada kromatograph (Lampiran). Hasil analisis profil asam lemak dapat diamati pada Tabel 4.

Tabel 4.

Profil Asam Lemak *Botryococcus* sp. 0 Gy (Kontrol) dan Hasil Iradiasi 10 Gy.

| Komposisi Asam Lemak     | Total (%) |        |
|--------------------------|-----------|--------|
|                          | Kontrol   | 10 Gy  |
| Asam Kaprat (C10:0)      | 3,15%     | 0,49%  |
| Asam Miristat (C14:0)    | 2,32%     | 1,42%  |
| Asam Palmitat (C16:0)    | 33,44%    | 26,72% |
| Asam Palmitoleat (C16:1) | -         | 2,20%  |



|                                    |        |        |
|------------------------------------|--------|--------|
| Asam 7,10 Heksadekadienoat (C16:2) | -      | 2,37%  |
| Asam Stearat (C18:0)               | 9,66%  | 9,38%  |
| Asam Oleat (C18:1)                 | 36,53% | 33,84% |
| Asam Linoleat (18:2)               | 14,90% | 16,57% |
| Asam Linolenat (C18:3)             | -      | 1,40%  |
| Asam Arakidat (C20:0)              | -      | 0,82%  |
| Asam Arakidonat (C20:4)            | -      | 3,44%  |
| Asam Lignoserat (C24:0)            | -      | 1,39%  |

Analisis GC-MS yang diperoleh menunjukkan adanya 6 jenis asam lemak yang terkandung dalam lipid *Botryococcus* sp. kontrol (0 Gy) seperti pada Tabel 4. Profil asam lemak yang terkandung didominasi oleh asam lemak dengan rantai karbon 16 dan 18, seperti asam palmitat, asam linoleat, asam oleat dan asam stearat. Persentase asam lemak yang tinggi adalah asam oleat (36,53%) dan asam palmitat (33,44%). Komposisi lipid pada mikroalga *Botryococcus* memang memiliki profil asam lemak yang utama yaitu asam oleat (C18:1), asam palmitat (C16:0), asam linolenat (C18:3), asam stearat (C18:0) dan asam linoleat (C18:2) (Knothe, 2008). Asam stearat dan asam palmitat termasuk jenis asam lemak jenuh, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat termasuk asam lemak tak jenuh [36].

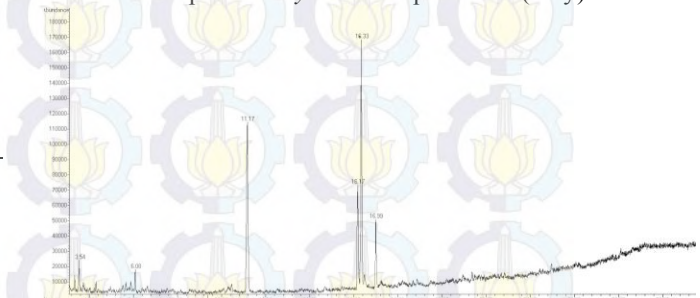
Analisis profil asam lemak pada lipid *Botryococcus* sp. hasil iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  10 Gy menunjukkan komposisi yang berbeda. Berdasarkan tabel 4, *Botryococcus* sp. hasil iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dosis 10 Gy memiliki 12 jenis asam lemak. Namun asam lemak yang mendominasi tetap terdiri dari asam oleat sebesar 32,17% dan asam palmitat sebesar 26,72%. Perbedaan komposisi asam lemak pada mikroalga *Botryococcus* sp. kontrol dan hasil iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dosis 10 Gy diduga terjadi karena enzim yang relevan dengan proses pemanjangan asam lemak diinduksi sehingga terjadi pemanjangan asam lemak menjadi asam arakidonat, asam arakidat dan asam lignoserat. Sehingga persentase C16 dan C18 menurun karena adanya proses pemanjangan ini. Radiasi sinar Gamma dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel mempengaruhi aktivitas enzim di dalam sel [37]. Hal ini sesuai dengan penelitian mengenai efek sinar Gamma terhadap *Chlorella* sp., yang mengalami penurunan pada asam lemak C16 dan C18 akibat terbentuknya asam lemak rantai panjang [38].

#### IV. KESIMPULAN

Iradiasi Sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  pada mikroalga *Botryococcus* sp. berpengaruh terhadap biomassa dan kandungan lipidnya. Namun antara perlakuan kontrol (0 Gy) dengan mikroalga hasil iradiasi dosis 2 Gy, 4 Gy dan 6 Gy tidak berbeda nyata. Sedangkan antara kontrol dengan mikroalga hasil iradiasi dosis 10 Gy berbeda nyata. Biomassa dan persentase kandungan total lipid tertinggi terdapat pada mikroalga hasil iradiasi dosis 10 Gy sebesar 0,333 gram biomassa dan 41% total lipid. Komposisi asam lemak mikroalga hasil iradiasi 10 Gy memiliki 12 jenis asam lemak, dimana asam lemak rantai panjang meningkat dan asam lemak rantai pendek menurun.

#### LAMPIRAN

Hasil GC-MS pada *Botryococcus* sp. kontrol (0 Gy)



| Waktu Retensi | Komposisi Asam Lemak  |
|---------------|-----------------------|
| 3.54          | Asam Kaprat (C10:0)   |
| 6.08          | Asam Miristat (C14:0) |
| 11.17         | Asam Palmitat (C16:0) |
| 16.17         | Asam Linoleat (18:2)  |
| 16.33         | Asam Oleat (C18:1)    |
| 16.99         | Asam Stearat (C18:0)  |

Hasil GC-MS pada *Botryococcus* sp. 10 Gy



| Waktu Retensi | Komposisi Asam Lemak               |
|---------------|------------------------------------|
| 3.53          | Asam Kaprat (C10:0)                |
| 6.08          | Asam Miristat (C14:0)              |
| 10.09         | Asam 7,10 Heksadekadienoat (C16:2) |
| 10.29         | Asam Linolenat (C18:3)             |
| 10.46         | Asam Palmitoleat (C16:1)           |
| 11.17         | Asam Palmitat (C16:0)              |
| 16.17         | Asam Linoleat (18:2)               |
| 16.33         | Asam Oleat (C18:1)                 |
| 16.48         | Asam Oleat (C18:1)                 |
| 16.99         | Asam Stearat (C18:0)               |
| 19.94         | Asam Arakidonat (C20:4)            |
| 21.35         | Asam Arakidat (C20:0)              |
| 28.10         | Asam Lignoserat (C24:0)            |

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis N.Y. mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si., Dr. Techn. Endry Nugroho P., M.T., Triono Bagus Saputro, S.Si, M.Biotech dan Ir. Sri Nurhatika M.P. terima kasih atas waktu dan bimbingannya. Kepada ibunda Yanty Susanty Tanjung S.E. dan nenek tercinta Hj. Noorsinah, terima kasih atas segala doa dan kasih sayangnya. Penelitian ini juga tidak lepas dari bantuan teman-teman seperjuangan angkatan 2012 dan seluruh pihak yang telah banyak membantu.



## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Chisti Y. *et al.* 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv*;25:294–306.
- [2] Derner, R. B. *et al.* Microalgae, products and applications (Microalgas, produtos e aplicações). *Ciência Rural* 2006; 36(6) 1959-1967.
- [3] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. 2006. Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioeng*;101:87–96.
- [4] Fedorov AS, Tsygankov AA, Rao KK, Hall DO (2001) Production of hydrogen by an *Anabaena variabilis* mutant in photobioreactor under aerobic outdoor conditions. In: Miyake J, Matsunaga T, San Pietro A (eds) *BioHydrogen II*. Elsevier, New York, pp 223–228.
- [5] Kapdan IK, Kargi F (2006) Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme Microb Technol* 38:569–582.
- [6] Metting FB. 1996. Biodiversity and application of microalgae. *J Ind. Microbiol*;17:477–89.
- [7] Sawayama, S., Inoue, S., and Yokoyama, S. 1995. Phylogenetic position of *Botryococcus braunii* based on small subunit of ribosomal RNA sequence data. *J. Phycol.* 31: 419.
- [8] Knothe, G., 2008. “Designer” biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy Fuels* 22 (2), 1358–1364.
- [9] Yang, F., M. Hanna and R. Sun, 2012. Value-added uses for crude glycerol—a byproduct of biodiesel production, *Biotechnol. Biofuels*, 5, 13.
- [10] Hannon, M., J. Gimpel, M. Tran, B. Rasala and S. Mayeld, 2010. Biofuels from algae: challenges and potential, *Biofuels*, 1(5), 763–784.
- [11] Pal D, Khozin-Goldberg I, Cohen Z, Boussiba S. 2011. The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. *Appl Microbiol Biotechnol*;90:1429–41.
- [12] Zhang, L., G. R. Hu, Y. Fan, C. Yuan, J. F. Wang, W. J. Li, Q. Hu and F. L. Li. 2013. Enhanced lipid productivity and photosynthesis efficiency in a *Desmodesmus* sp. mutant induced by heavy carbon ions, *PLoS One*, 8(4), e60700.
- [13] Kovacs E, Keresztes A. 2002. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. *Micron* 002;33(2):199e210.
- [14] Hwang, J. W. Ahn, S. J. Kwon, J. B. Kim, S. H. Kim, S. Y. Kang and D. S. Kim. 2014. Selection and molecular characterization of a high tocopherol accumulation rice mutant line induced by gamma irradiation, *Mol. Biol. Rep.*, 41(11), 7671–7681.
- [15] Cheng J, Huang Y, Feng J, Sun J, Zhou J, Cen K. 2014. Mutate *Chlorella* sp. by nuclear irradiation to fix high concentrations of CO<sub>2</sub>. *Bioresour Technol* 136:496–501.
- [16] Jong Se Han, Minchul Yoon, Minho Joe, Hyun Park, Sung Gu Lee, dan Pyung Cheon Lee. 2014. Development of microalga *Scenedesmus dimorphus* mutant with higher lipid content by radiation breeding. *Bioprocess Biosyst Eng* 37:2437–2444.
- [17] Susilowati, Rini dan Sri Amini. 2010. Kultivasi Mikroalga *Botryococcus braunii* sebagai Sumber Bahan Energi Alternatif dengan Sistem Indoor dan Outdoor. *Prosiding Forum Teknologi Akuakultur*.
- [18] Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton; Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 106 hal.
- [19] Andersen, R.A. 2005. *Algal Culturing Techniques*. San Diego : Elsevier Inc.
- [20] Kusmiyati, Ni wayan Sri A. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas* ISSN: 1412-033X.
- [21] Balai Budidaya Air Payau. 2013. *Standart Operasional Prosedur BBAP Situbondo*. Situbondo : Direktorat Jendral Perikanan dan Budidaya Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- [22] Bligh, E.G. and Dyer, W. J. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can.J.Biochem.Physiol.* 37 : 911 -917.
- [23] Lestari, S., dan Amrullah. 2013. Profil Pertumbuhan dan Analisis Kandungan Karbohidrat, Protein, Lipid Mikroalga Hijau Biru pada Medium AF-6 dengan Cara Penambahan Substrat Limbah Ampas Sagu. *Jurnal UPI*. 16 : 265-271.
- [24] Song M.M, Pei HY, Hu WR, Ma GX. 2013. Evaluation of the potential of 10 microalgal strains for biodiesel production. *Bioresour Technol*;141:245–51.
- [25] Sari, Adelyna M., Hesty Eka Mayasari, Rachimoellah, Siti Zullaikah. 2013. Pertumbuhan dan Kandungan Lipida dari *Botryococcus braunii* dalam Media Air Laut. *JURNAL TEKNIK POMITS* Vol. 2, No. 1, (2013) ISSN: 2337-3539 (2301-9271 Print).
- [26] Hu, H. and Gao, K. 2006. Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis* sp. to environmental factors under elevated CO<sub>2</sub> concentration. *Biotechnol. Lett.*, 28: 987–992.
- [27] Bellou Stamatia, Mohammed N. Baeshen, Ahmed M. Elazzazy, Dimitra Aggeli. 2013. Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives Fotoon Sayegh, George Aggelis. *Biotechnology Advances* 32 1476–1493.
- [28] Yubin Ma, Zhiyao Wang, Ming Zhu, Changjiang Yu, Yingping Cao, Dongyuan Zhang, dan Gongke Zhou. 2013. Increased lipid productivity and TAG content in *Nannochloropsis* by heavy-ion irradiation mutagenesis. *Bioresour Technol* 136 (2013) 360–367.
- [29] Chakravarty, B. dan S. Sen, 2001. Enhancement of Regeneration Potential and Variability by Gamma Irradiation in Cultured Cell of *Scilla indica*. *Biologia Plantarum*, (2): 9-193.
- [30] Yoon Minchul, Jong-il Choi, Gwang Hoon Kim, Dong-Ho Kim, Don-Hee Park. 2013. Proteomic analysis of *Spirogyra* variants mutant with high starch content and growth rate induced by gamma irradiation. *Bioprocess Biosyst Eng* DOI 10.1007/s00449-013-0902-x.
- [31] Wi, S.G., Chung, B.Y., Kim, J.H., Baek, M.H., Yang, D.H., Lee, J.W., and Kim, J.S. 2005. Ultrastructural changes of cell organelles in *Arabidopsis* stem after gamma irradiation. *J. Plant Biol.* 48(2): 195-200.
- [32] Acquah, G. 2007. *Principles of Plant Genetics and Breeding*. Blackwell Publishing. USA, UK, Australia. 569 p.
- [33] Li, Y., Han, D., Sommerfeld, M., Hu, Q., 2011. Photosynthetic carbon partitioning and lipid production in the oleaginous microalga *Pseudochlorococcum* sp. (Chlorophyceae) under nitrogen-limited conditions. *Bioresour. Technol.* 102 (1), 123–129.
- [34] Ahloowalia BS, Maluszynski M. 2001. Induced mutations – a new paradigm in plant breeding. *Euphytica* 118:167–173.
- [35] Tammam AA, Allam MM, Osman M. 2005. Mutagenesis of *Dunaliella salina*. *Int J Agric Biol* 7:477–481.
- [36] Canakci, M. dan Van Gerpen, J.V. 2003. A Pilot Plant To Produce Biodiesel From High Free Fatty Acid Feedstocks. *Trans Asae* 46 (4) : 945 - 954.
- [37] Agarwal R, Rane SS, Sainis JK. Effects of 60Co  $\gamma$  radiation on thylakoid membrane functions in *Anacystis nidulans*. *J Photochem Photobiol B: Biol* 2008;91(1):9e19.
- [38] Ratledge, C., 2004. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single Cell Oil production. *Biochimie* 86, 807–815.